Iranian Food Science and Technology
Research Journal
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir

Research Article
Vol. 20, No. 1, Mar.-Apr., 2024, p. 35-46

Ethanolic Extract of *Prosopis farcta* Root: Determination of Total Phenols and Flavonoids, Radical Scavenging Ability and Its Antimicrobial Effect on Some Bacteria Causing Infection and Food Poisoning

B. Alizadeh Behbahani[1*], M. Rahmati-Joneidabad[2], M. Noshad[1]

1- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
(*- Corresponding Author Email: B.alizadeh@asnrukh.ac.ir)
2- Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

Received: 19.05.2022
Revised: 11.06.2022
Accepted: 15.06.2022
Available Online: 01.05.2023

How to cite this article:
Alizadeh Behbahani, B., Rahmati-Joneidabad, M., & Noshad, M. (2024). Ethanolic extract of *Prosopis farcta* root: Determination of total phenols and flavonoids, radical scavenging ability and its antimicrobial effect on some bacteria causing infection and food poisoning. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 20*(1), 35-46. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.76780.1173

Introduction

The use of safe ingredients to preserve food is steadily increasing. The high time and cost of production and approval of synthetic food additives and the reduction of public acceptance of these compounds have caused serious problems in their utilization. Excessive use of synthetic preservatives, which some of them are suspected to be toxic, has completely eliminated these additives and led to the use of natural alternatives to preserve or extend the shelf life of food products. Many plant-based bioactive compounds are good alternatives to synthetic antimicrobial and antioxidant supplements. Plant extracts have significant biological activity including antioxidant, antibacterial, and antifungal properties, which has increased their use in food products. In addition, plant-derived antimicrobial compounds have been considered in the pharmaceutical industry to control microbial pathogens. Natural antioxidant and antimicrobial compounds are receiving a lot of research and industrial attention in food preservation technologies. In the last 2 decades, the use of herbal medicines rich in bioactive molecules (including polyphenols, carotenoids and flavonoids) with medicinal and health effects such as delaying the onset of some diseases such as cardiovascular disorders, diabetes, and cancer have increased.

The plant *Prosopis farcta* grown in arid and semi-arid regions. In Iran, it is found in the southern regions of the country. In traditional medicine, this plant is used to prevent hyperlipidemia and hyperglycemia, to treat hemorrhoids, intestinal diseases and diarrhea, and leprosy, and to reduce abortion. In addition, antimicrobial and antioxidant properties of various species of *Prosopis* have been reported. Accordingly, in this study, after examining the of total phenols and flavonoids concentrations, the antioxidant and antimicrobial properties of ethanolic extract of *Prosopis farcta* were determined.

Materials and Methods

The ethanolic extract of *P. farcta* was obtained maceration method. Total phenol content (by Folin-Ciocalteu reagent method), total flavonoid content (by aluminum chloride method), antioxidant activity (by DPPH and ABTS free radical scavenging and beta-carotene bleaching methods), and antimicrobial effect against *Escherichia coli*, *Shigella dysentery*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis* (by disk diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum fungicidal concentration) of the extract were evaluated.

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.76780.1173

Results and Discussion

P. farcta ethanolic extract showed high phenol content (145.58 ± 1.30 mg GAE/g), while its total flavonoid content was 72.37 ± 1.48 mg QE/g. Antioxidant activity of ethanolic extract of melon root using different methods of DPPH and ABTS free radical scavenging and beta-carotene bleaching inhibition were 62.60, 71.82 and 54.50%, respectively. Antibacterial activity of *P. farcta* ethanolic extract against *Escherichia coli*, *Shigella dysentery, Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis* according to disk diffusion agar and well diffusion agar methods showed that the antimicrobial activity of the extract was concentration dependent and *Shigella dysentery* and *Staphylococcus aureus* were the most resistant and sensitive bacterial strains to the extract respectively. The minimum inhibitory concentrations of ethanolic extract of *P. farcta* root for *Escherichia coli*, *Shigella dysentery*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis* were 8, 8, 4 and 4 mg/ml, respectively; while the minimum bactericidal concentrations for these bacteria were 128, 256, 32 and 64 mg/ml, respectively.

Conclusion

In the present study, ethanolic extract obtained from the roots of *P. farcta* was identified as a rich source of phenolic and flavonoid compounds. The ethanolic extract showed effective antimicrobial and antioxidant properties. The results greatly indicated the promising effect of *P. farcta* root extract against Gram-positive and Gram-negative bacterial species. As the microbial resistance is constantly increasing, ethanolic extract of *P. farcta* root can be considered as a suitable complementary option to tackle this problem. In addition, the identification of individual components of *P. farcta* ethanolic extract and their biological functions or their combination with common antioxidant and antimicrobial agents could be the subject of future research.

Keywords: Antibacterial effect, Antioxidant activity, Bioactive extract, Phenolic compounds, *Prosopis farcta*

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
https://ifstrj.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۱، فروردین- اردیبهشت ۱۴۰۳، ص. ۴۶-۳۵

عصاره اتانولی ریشه گیاه کهورک: تعیین فنول و فلاونوئید کل، توانایی رادیکال گیرندگی و اثر ضدمیکروبی آن بر برخی از باکتری‌های عامل عفونت و مسمومیت غذایی

بهروز علیزاده بهبهانی [1*]- مصطفی رحمتی جنیدآباد[2]- محمد نوشاد[1]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۵

چکیده

پژوهش حاضر به‌منظور بررسی میزان فنول کل و فلاونوئید کل و همچنین فعالیت مهار رادیکال آزاد و ضد میکروبی عصاره اتانولی ریشه کهورک (*Prosopis farcta*) انجام شد. عصاره اتانولی کهورک محتوای فنول بالایی را نشان داد (۱۴۵/۵۸ ± ۱/۳۰ mg GAE/g)، همچنین محتوای فلاونوئید کل آن mg QE/g ۷۲/۳۷ ± ۱/۴۸ بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی ریشه کهورک با استفاده از روش‌های مختلف مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS و مهار زوال رنگ بتا-کاروتن به‌ترتیب برابر با ۶۲/۶۰، ۷۱/۸۲ و ۵۴/۵۰ درصد بود. فعالیت ضد باکتریایی عصاره کهورک در برابر باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *شیگلا دیسانتری*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* مطابق روش‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار نشان داد که فعالیت ضدمیکروبی عصاره وابسته به غلظت است و باکتری‌های *شیگلا دیسانتری* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌ترتیب با کمترین و بیشترین قطر هاله عدم رشد، مقاوم‌ترین و حساس‌ترین سویه‌های باکتریایی در برابر عصاره بودند. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی ریشه کهورک برای باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *شیگلا دیسانتری*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* به‌ترتیب ۸، ۸، ۴ و ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود؛ درحالی‌که حداقل غلظت کشندگی برای باکتری‌های مذکور به‌ترتیب برابر با ۱۲۸، ۲۵۶، ۳۲ و ۶۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود.

واژه‌های کلیدی: اثر ضد باکتریایی، ترکیبات فنولی، کهورک، عصاره زیست فعال، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

تلاش جهت استفاده از مواد جدید ایمن برای نگهداری مواد غذایی در سراسر جهان افزایش یافته است. زمان و هزینه بالای تولید و تائید افزودنی‌های شیمیایی مواد غذایی و کاهش پذیرش عمومی در مصرف این ترکیبات استفاده از آن‌ها را با مشکلات جدی روبه‌رو کرده است. استفاده بیش از حد از نگهدارنده‌های مصنوعی، که برخی از آن‌ها به دلیل سمی بودن آن‌ها مشکوک هستند، باعث حذف کامل این عوامل و استفاده از جایگزین‌های طبیعی جهت نگهداری یا افزایش عمر مفید محصولات غذایی شده است. بسیاری از ترکیبات زیست فعال گیاهی جایگزین مناسبی برای افزودنی‌های غذایی ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی مصنوعی به شمار می‌آیند (Ortega-Ramirez *et al*., 2014).

عصاره‌های گیاهی دارای فعالیت بیولوژیکی قابل‌توجهی از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضد قارچی می‌باشند که این امر

۱- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: B.alizadeh@asnrukh.ac.ir)
۲- استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.76780.1173

استفاده از آن‌ها را در محصولات غذایی افزایش داده است. علاوه بر این، ترکیبات ضد میکروبی با منشأ گیاهی در صنعت داروسازی برای کنترل پاتوژن‌های میکروبی مورد توجه قرار گرفته است. اگرچه معرفی آنتی‌بیوتیک‌ها به‌طور چشمگیری درمان عفونت‌های باکتریایی را بهبود می‌بخشند، ظهور سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک منجر به جستجوی مداوم برای ترکیبات ضد میکروبی طبیعی شده است. یک آنتی‌اکسیدان طبیعی برای جلوگیری از آسیب پراکسیداتیو لیپیدی که در چندین اختلال مانند تصلب شرایین، سرطان‌زایی و در فرآیند پیری نقش دارد نیز اهمیت زیادی دارد (Duffy & Power, 2001). عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی مختلفی فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بالایی را از خود نشان داده‌اند (Poudineh *et al.*, 2015).

گیاه کهورک یا جغجغه با نام علمی *Prosopis farcta* متعلق به خانواده Fabaceae بوده که در مناطق خشک و نیمه‌خشک آمریکا، آفریقا و آسیا می‌روید. در ایران نیز در مناطق جنوبی کشور در استان‌های هرمزگان، خوزستان، سیستان و بلوچستان، جنوب فارس و بوشهر یافت می‌شود. گیاه کهورک با ارتفاع حدود ۳۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متری، گیاهی بوته‌ای و چند ساله می‌باشد که به آب زیادی نیاز ندارد و در زمین‌های خشک یافت می‌شود. در طب سنتی از این گیاه جهت جلوگیری از افزایش چربی و قند خون، درمان بواسیر، بیماری‌های روده‌ای و اسهال، جذام و تنگی نفس و کاهش سقط جنین استفاده می‌شود. علاوه بر این خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مختلف آن گزارش شده است (Aziznia *et al.*, 2019; Khatami *et al.*, 2016; Morovati & Salehi, 2017; Sharifabad). با توجه به اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی گیاه کهورک در این پژوهش پس از بررسی میزان فنول و فلاونوئید کل، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره اتانولی این گیاه تعیین گردید.

مواد و روش‌ها

سویه‌های میکروبی و مواد شیمیایی مورد استفاده

در این پژوهش از سویه‌های *اشرشیا کلی*، *شیگلا دیسانتری*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* نگهداری شده در کلکسیون میکروبی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان استفاده شد.

دیسک‌های بلانک، محلول تری‌فنیل‌تترازولیوم کلراید، محیط‌های کشت مولر هینتون آگار و مولر هینتون براث از شرکت مرک (آلمان) و معرف‌های ABTS، بتاکارتن/ لینولئیک اسید، DPPH و فولین- سیوکالچو از شرکت سیگما (آمریکا) تهیه شدند.

تهیه عصاره اتانولی گیاه کهورک

عصاره اتانولی گیاه کهورک با استفاده از روش خیساندن تهیه شد. بدین ترتیب که، ۱ گرم نمونه با ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد به مدت ۲۰ ساعت همزده شد. سپس مخلوط با استفاده از کاغذ صافی واتمن فیلتر و تا خشک شدن و خروج حلال اضافی تحت خلأ در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد (Alizadeh-Behbahani *et al.*, 2021).

تعیین فنول کل

در این روش ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره به همراه ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات (۷۵ گرم در لیتر) به معرف فولین- سیوکالچو (۱۰ درصد حجمی/ حجمی) اضافه شد. پس از نگهداری نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، جذب آن در طول‌موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار فنول کل بر اساس میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک عصاره (mg GAE/g) گزارش شد (Rahmati-Joneidabad & Alizadeh Behbahani, 2021).

تعیین فلاونوئید کل

بدین منظور ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره اتانولی گیاه کهورک (۰/۱ میلی گرم بر میلی‌لیتر) با ۰/۳ میلی‌لیتر محلول نیتریت سدیم (۵ درصد) مخلوط گردید. پس از افزودن ۰/۳ میلی‌لیتر آلومینیوم تری کلراید (۱۰ درصد وزنی/حجمی) مخلوط به مدت ۶ دقیقه همزده شد. در مرحله بعد ۲ میلی‌لیتر سود ۱ مولار اضافه و جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان فلاونوئید کل براساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک عصاره (mg QE/g) گزارش گردید (Barzegar *et al.*, 2020).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

از سه روش مهار رادیکال آزاد DPPH، مهار رادیکال آزاد ABTS و روش رنگ‌بری بتاکاروتن- لینولئیک اسید جهت اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی گیاه کهورک استفاده شد.

اندازه‌گیری مهار رادیکال آزاد DPPH

بدین منظور، ۵۰ میکرولیتر عصاره یا نمونه کنترل با ۵ میلی‌لیتر محلول DPPH (۰/۱۲ میلی‌مولار) مخلوط گردید. محلول به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در پایان جذب نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH عصاره طبق فرمول زیر محاسبه گردید (Alizadeh Behbahani *et al.*, 2021):

$$\text{درصد فعالیت بازدارندگی} = \frac{(\text{جذب نمونه کنترل} - \text{جذب عصاره})}{\text{جذب نمونه کنترل}} \times 100 \qquad (۱)$$

روش مهار رادیکال آزاد ABTS

در این روش، حجم‌های برابری از پرسولفات پتاسیم ۲/۴۵ میلی‌مولار و ABTS ۷ میلی‌مولار مخلوط شدند و محلول حاصل در دمای اتاق در مکانی تاریک به مدت ۱۶ ساعت برای تولید کاتیون‌های رادیکال ABTS نگهداری شد. پس از آن، متانول به محلول رادیکال ABTS اضافه شد تا به جذب ۰/۲ ± ۰/۷ در ۷۳۴ نانومتر برسد. محلول رادیکال ABTS (۳/۹ میلی‌لیتر) با ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره یا متانول به‌عنوان کنترل مخلوط و پس از نگهداری در دمای اتاق به مدت ۶ دقیقه، جذب آن در ۷۳۴ نانومتر خوانده شد. فعالیت مهارکنندگی در نهایت به‌صورت زیر تعیین شد (Alizadeh Behbahani *et al*., 2021):

$$\text{درصد فعالیت بازدارندگی} = \frac{(\text{جذب نمونه کنترل} - \text{جذب عصاره})}{\text{جذب نمونه کنترل}} \times 100 \qquad (۲)$$

روش رنگ‌بری بتاکاروتن- لینولئیک اسید

میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی در این روش بر اساس مقاومت در برابر اکسیداسیون لینولئیک اسید و تغییر رنگ بتاکاروتن از طریق رادیکال‌های آزاد می‌باشد که مانع از تولید هیدروپراکسیدهای کانژوگه و ترکیبات فرار می‌شود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این روش طبق فرمول زیر محاسبه گردید (Tanavar *et al*., 2020):

$$\text{درصد جذب رادیکال} = \frac{(\text{جذب نمونه بعد از 120 دقیقه} - \text{جذب کنترل بعد از 120 دقیقه})}{\text{جذب کنترل در زمان صفر} - \text{جذب کنترل بعد از 120 دقیقه}} \times 100 \qquad (۳)$$

بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره

از روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی به‌منظور بررسی قدرت ضدمیکروبی عصاره اتانولی گیاه کهورک استفاده شد.

روش دیسک دیفیوژن آگار

پس از تهیه غلظت‌های مختلف عصاره (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی گرم در میلی‌لیتر) و استریل آن‌ها با استفاده از توسط فیلترهای ۴۵ میکرومتری، دیسک‌های بلانک به مدت ۲۰ دقیقه در غلظت‌های تهیه شده نگهداری شدند. سپس دیسک روی محیط‌های کشت مولر هینتون آگار حاوی باکتری‌ها تثبیت شدند. پس از گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای باکتری‌ها، قطر هاله‌های عدم رشد اندازه‌گیری شد (Alizadeh Behbahani *et al*., 2019).

چاهک آگار

در این روش ابتدا چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌لیتر در پلیت‌های حاوی مولر هینتون آگار ایجاد گردید. پس از کشت سطحی باکتری‌ها روی محیط‌های کشت، ۶۰ میکرولیتر از هر یک از غلظت‌های تهیه شده عصاره (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در هر چاهک ریخته شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند و قطر هاله‌های عدم رشد اطراف چاهک‌ها بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری گردید (Shahidi *et al*., 2019).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی

در تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی، ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف نمونه در محیط کشت مولر هینتون براث (۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به همراه ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی به پلیت ۹۶ خانه‌ای اضافه شد. پس از پایان انکوباسیون (به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد)، ۱۰ میکرولیتر تری‌فنیل‌تترازولیوم کلرید ۵ درصد به هر یک از چاهک‌ها اضافه و مجدداً انکوبه‌گذاری انجام شد. پس از ۳۰ دقیقه اولین چاهکی که در آن رنگ قرمز مشاهده نشد، غلظت آن چاهک به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی ثبت شد (Yeganegi *et al*., 2018).

تعیین حداقل غلظت کشندگی

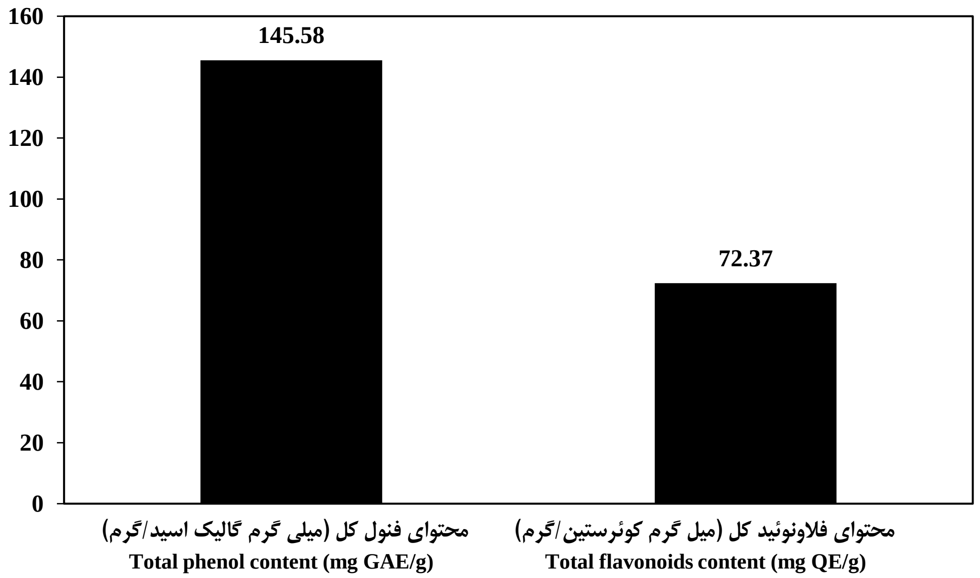
به‌منظور تعیین حداقل غلظت کشندگی همه چاهک‌های بدون کدورت به‌طور جداگانه روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شدند. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. غلظتی از عصاره اتانولی که در آن باکتری رشد نکرد به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش شد (Alizadeh Behbahani & Fooladi, 2018).

نتایج و بحث

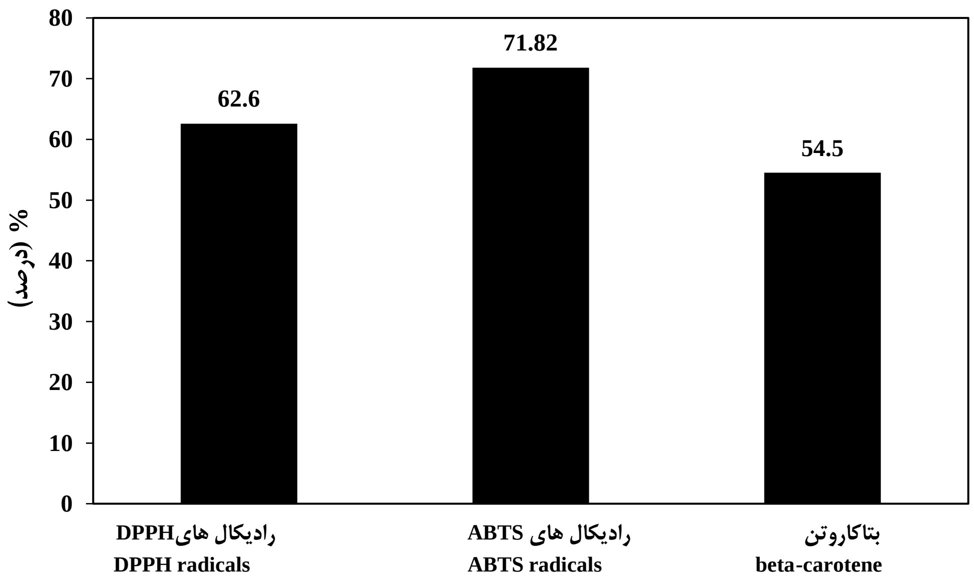
بسیاری از روش‌های نگهداری مواد غذایی را می‌توان برای کنترل فساد میکروبی و اکسیداسیون استفاده نمود. اگرچه عوامل ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی مصنوعی در بسیاری از کشورها تائید شده است، استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی ایمن و مؤثر یکی از خواسته‌های مصرف‌کنندگان و تولیدکنندگان مواد غذایی است. گیاهان دارویی به طور سنتی برای درمان اختلالات سلامتی و پیشگیری از بیماری‌ها استفاده می‌شوند و منبعی از ترکیبات زیست‌فعال با خواص افزودنی غذایی هستند. گیاهان دارویی سرشار از ترپن‌ها و ترکیبات فنولی هستند که خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی دارند (Alizadeh Behbahani *et al*., 2019; Alizadeh Behbahani & Shahidi, 2019; Alizadeh Behbahani, Shahidi, *et al*., 2013). در این راستا، عصاره اتانولی ریشه گیاه کهورک استخراج گردید و میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی آن

بررسی گردید. نتایج نشان داد که عصاره حاوی ۱/۳۰ mg GAE/g ± ۱۴۵/۵۸ فنول کل و ۱/۴۸ mg QE/g ± ۷۲/۳۷ فلاونوئید کل می‌باشد (شکل ۱).

علاوه بر این، عصاره اتانولی ریشه کهورک دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی بود (شکل ۲)؛ بطوری‌که فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن بر پایه روش‌های مهار رادیکال‌های DPPH و ABTS و جلوگیری از زوال رنگ بتا-کاروتن به‌ترتیب برابر با ۱/۵۰ ± ۶۲/۶۰ درصد، ۰/۴۸ ± ۷۱/۸۲ درصد و ۰/۶۰ ± ۵۴/۵۰ درصد بود.

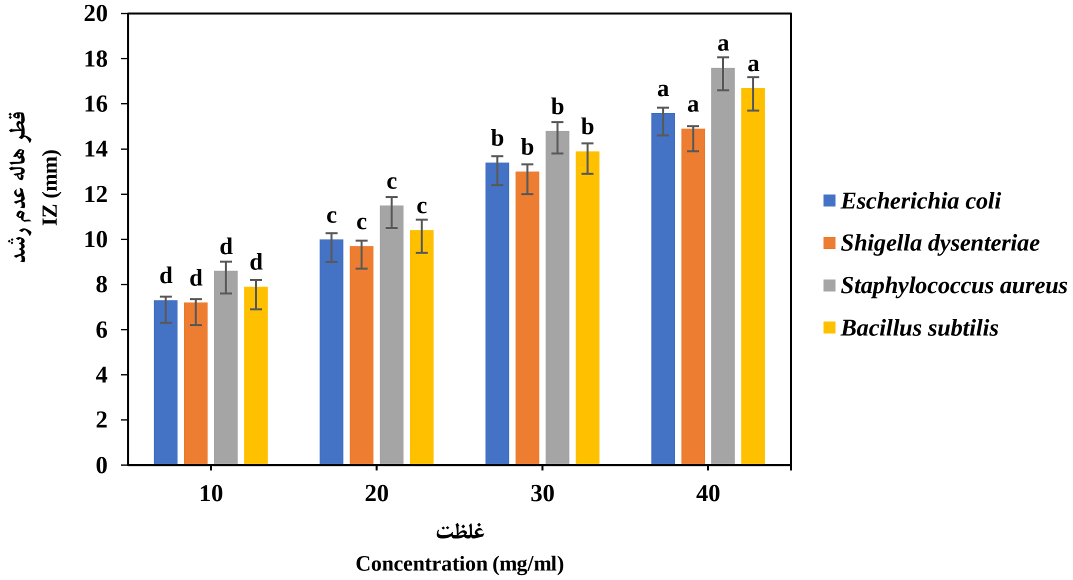


شکل ۱- محتوای فنول و فلاونوئید کل عصاره اتانولی ریشه کهورک
Fig. 1. Total phenol and flavonoid contents of ethanolic extract of *Prosopis farcta* root



شکل ۲- فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی ریشه کهورک
Fig. 2. Antioxidant activity of ethanolic extract of *Prosopis farcta* root

نتایج فعالیت ضد باکتریایی عصاره اتانولی ریشه کهورک در برابر باکتری‌های پاتوژن و عامل مسمومیت براساس روش دیسک دیفیوژن آگار در شکل ۳ گزارش شده است. مطابق نتایج، افزایش غلظت عصاره از ۱۰ به ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر سبب افزایش معنی‌دار قطر هاله عدم رشد برای تمامی باکتری‌های مورد مطالعه گردید. در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، قطر هاله عدم رشد از ۷/۲۰ میلی‌متر برای باکتری *شیگلا دیسانتری* تا ۸/۶۰ میلی‌متر برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* متغیر بود. در حالی‌که مقادیر قطر هاله عدم رشد در غلظت ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره برای باکتری‌های مذکور به‌ترتیب ۱۴/۹۰ میلی‌متر و ۱۷/۶۰ میلی‌متر مشاهده گردید. بطور کلی، باکتری‌های *شیگلا دیسانتری* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌ترتیب با کمترین و بیشترین قطر هاله عدم رشد، مقاوم‌ترین و حساس‌ترین سویه‌های باکتریایی نسبت به عصاره بودند. همچنین، قطر هاله عدم رشد در باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس*) در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی (*اشرشیا کلی* و *شیگلا دیسانتری*) بزرگ‌تر بود که حساسیت بیشتر این گروه از باکتری‌ها را بازگو می‌کند.



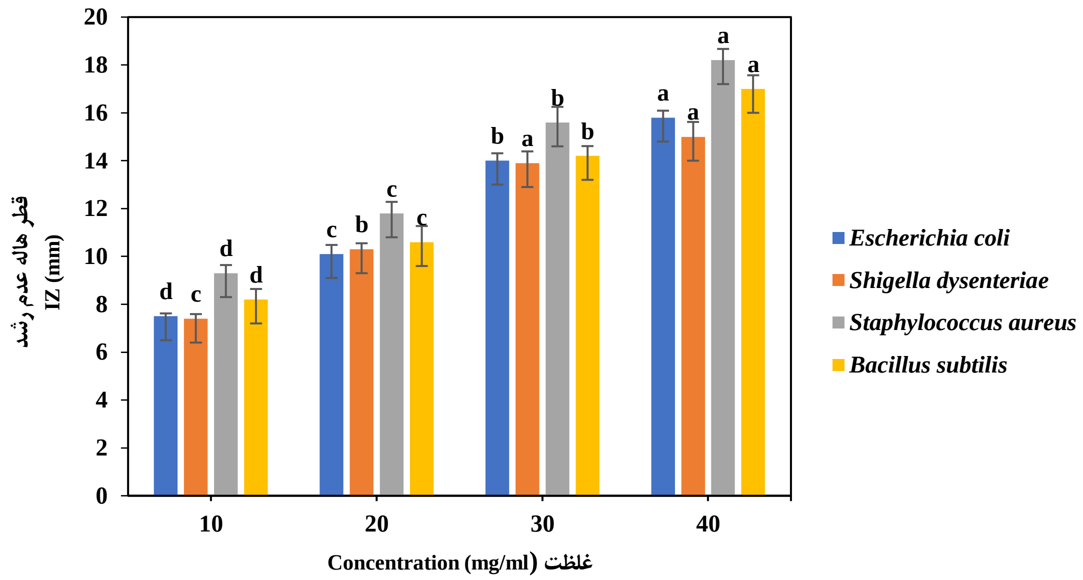
شکل ۳- فعالیت ضدمیکروبی عصاره اتانولی ریشه کهورک بر اساس روش دیسک دیفیوژن آگار

Fig. 3. Antimicrobial activity of ethanolic extract of *Prosopis farcta* root, based on disk diffusion agar method

نتایج آزمون چاهک آگار در راستای یافته‌های آزمون دیسک دیفیوژن آگار بود (شکل ۴). افزایش غلظت عصاره سبب افزایش معنی‌دار قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های مورد مطالعه گردید. در حضور غلظت ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، باکتری *شیگلا دیسانتری* با قطر هاله عدم رشد معادل ۱۵ میلی‌متر و باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطر هاله عدم رشد معادل ۱۸/۲۰ میلی‌متر به‌ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین سویه‌های باکتریایی نسبت به عصاره اتانولی ریشه کهورک بودند. علاوه بر این، شایان ذکر است که قطر هاله عدم رشد در آزمون چاهک آگار بزرگ‌تر از آزمون دیسک دیفیوژن آگار بود.

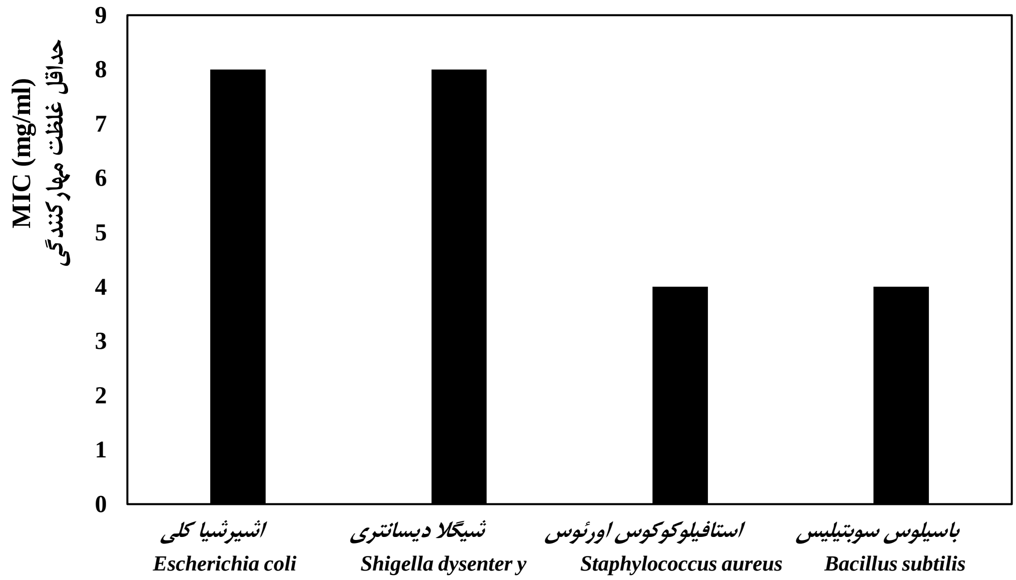
حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی ریشه کهورک برای باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *شیگلا دیسانتری*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* به‌ترتیب ۸، ۸، ۴ و ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود (شکل ۵) که حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی در برابر عصاره را نشان می‌دهد.

شکل ۶ نتایج حداقل غلظت کشندگی عصاره در برابر باکتری‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد. مقادیر حداقل غلظت کشندگی برای باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *شیگلا دیسانتری*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* به‌ترتیب برابر با ۱۲۸، ۲۵۶، ۳۲ و ۶۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. مطابق نتایج، باکتری *شیگلا دیسانتری* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین سویه‌ها در برابر عصاره اتانولی ریشه کهورک بودند که در راستای نتایج سایر آزمون‌های ضدمیکروبی می‌باشد.



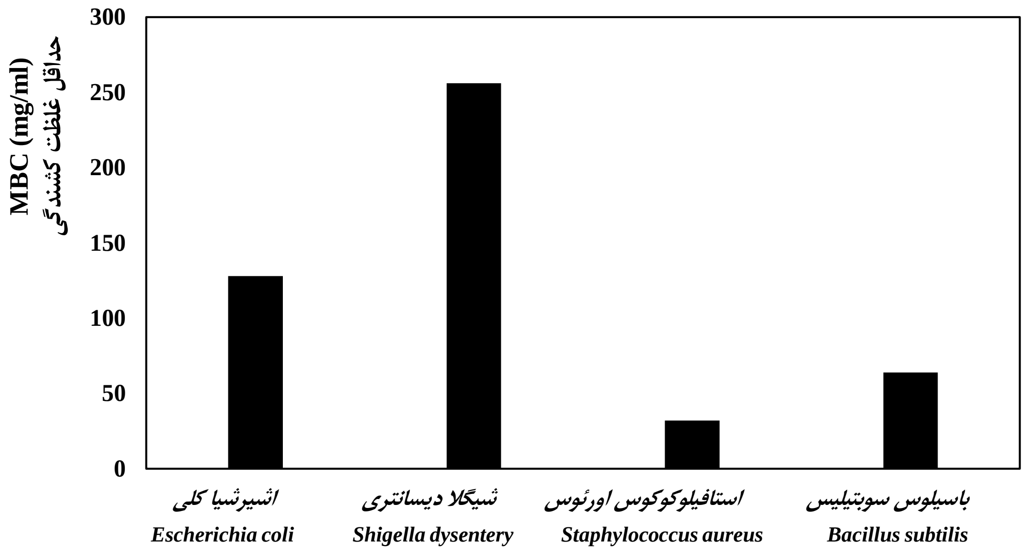
شکل ٤- فعالیت ضدمیکروبی عصاره اتانولی ریشه کهورک بر اساس روش چاهک آگار

Fig. 4. Antimicrobial activity of ethanolic extract of *Prosopis farcta* root, based on well diffusion agar method



شکل ٥- فعالیت ضدمیکروبی عصاره اتانولی ریشه کهورک بر اساس روش حداقل غلظت مهارکنندگی

Fig. 5. Antimicrobial activity of ethanolic extract of *Prosopis farcta* root, based on minimum inhibitory concentration method



شکل ٦- فعالیت ضدمیکروبی عصاره اتانولی ریشه کهورک بر اساس روش حداقل غلظت کشندگی

Fig. 6. Antimicrobial activity of ethanolic extract of *Prosopis farcta* root, based on minimum bactericidal concentration method

چندین ترکیب فنولی مانند آپیژنین، لوتئولین، چالکون و مشتقات اسید سینامیک از سایر گونه‌های *Prosopis* شناسایی شده‌اند (Almaraz-Abarca *et al*., 2007). ترکیبات فنولی به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و سایر اثرات درمانی خود به خوبی شناخته شده‌اند (Alizade Behbahani *et al*., 2014; Behbahani *et al*., 2017; Ebrahimi Hemmati Kaykha *et al*., 2020; Yeganegi *et al*., 2018). محتوای بالای ترکیبات فنولی به‌عنوان یک ویژگی قابل توجه عصاره اتانولی کهورک یافت شد، زیرا این گروه از ترکیبات برای نشان دادن فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در سیستم‌های بیولوژیکی به خوبی شناخته شده‌اند (Alghooneh *et al*., 2015; Alizade Behbahani *et al*., 2019). مطالعات پیشین ارتباط بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنولی عصاره‌های گیاهی را نشان داده است (Alizade Behbahani *et al*., 2014; Alizadeh Behbahani *et al*., 2021; Alizadeh Behbahani & Shahidi, 2019; Alizadeh Behbahani, Yazdi, *et al*., 2013). ترکیبات پلی‌فنولی قادر به اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد به‌منظور حذف الکترون‌های منفرد هستند و در نتیجه از واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال آزاد نامطلوب جلوگیری می‌کنند که ممکن است منجر به انواع مختلف بیماری‌ها گردند (Falah *et al*., 2021; Garavand *et al*., 2021; Nooshkam *et al*., 2019; Tanavar *et al*., 2020).

عصاره اتانولی ریشه کهورک فعالیت ضد میکروبی قابل‌توجهی در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی آزمایش شده نشان داد. قوی‌ترین فعالیت ضد باکتریایی عصاره در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده شد، درحالی‌که عصاره کمترین فعالیت ضد باکتریایی را در برابر *شیگلا دیسانتری* نشان داد. فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی ریشه کهورک وابسته به غلظت بود. فعالیت ضد باکتریایی مشاهده شده به حضور ترکیبات زیست فعال مانند فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنولی نسبت داده شده است (Aqeel *et al*., 1989).

در این مطالعه، قطر هاله عدم رشد در آزمون چاهک آگار بالاتر از روش دیسک دیفیوژن آگار بود. این حالت ممکن است به دلیل تماس مستقیم بین ماده ضد میکروب و میکروارگانیسم در روش چاهک آگار باشد. درحالی‌که انتشار عامل ضد میکروب از سطح دیسک به محیط، اثر ضد باکتریایی آن را در روش دیسک دیفیوژن آگار تعیین می‌کند (Alizadeh Behbahani *et al*., 2021).

همچنین می‌توان به این نکته توجه داشت که حساسیت بیشتر گونه‌های باکتریایی گرم مثبت به عصاره اتانولی ریشه کهورک تا حد زیادی به دلیل وجود یک لایه نازک و منفرد موکوپپتید در غشاء سلولی آنها است، درحالی‌که غشاء سلولی خارجی گونه‌های گرم منفی توسط یک لایه لیپوپلی‌ساکاریدی کمپلکس پوشانده شده و محافظت می‌شود که می‌تواند به‌عنوان مانعی در برابر انتشار عوامل ضد میکروبی آبگریز در سراسر سلول عمل کند (Tabatabaei Yazdi *et al*., 2014; Tanavar *et al*., 2020; Yazdi & Behbahani, 2013).

هماهنگ با یافته‌های این پژوهش، خواص مهار رادیکال و ضد میکروبی عصاره اتانولی میوه کهورک توسط فربودنیای جهرمی و همکاران (Farboodniay Jahromi *et al*., 2018) بررسی گردید.

عصاره میوه اتانولی کهورک محتوای فنول بالایی را نشان داد (mg GAE/g ۰/۰۷ ± ۶۱/۵۵) درحالی‌که محتوای کل فلاونوئید آن معادل mg QE/g ۰/۰۸ ± ۱۷/۰۰ بود. کارایی آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی میوه با استفاده از DPPH، قدرت کاهندگی آهن و ABTS به‌ترتیب برابر با ۶۲/۴۵ میکروگرم در میلی‌لیتر، ۱۲۱/۴۳ میکروگرم در میلی‌لیتر و ۵۳/۲۴ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. نتایج غربالگری ضد میکروبی نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی میوه در برابر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* برابر با ۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. همچنین، فعالیت ضد کاندیدیایی قابل‌توجهی برای عصاره میوه اتانولی مشاهده شد (Farboodniay Jahromi *et al*., 2018).

فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره بخش‌های هوایی گیاه کهورک در مصر توسط سعد و همکاران (Saad *et al*., 2017) ارزیابی گردید. عصاره هگزان فعالیت ضد میکروبی متوسطی در برابر گونه‌های *شیگلا*، *اشرشیا کلی* و *پروتئوس ولگاریس* و عصاره متیلن کلراید در برابر *اروینیا*، *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* نشان داد. از سوی دیگر، عصاره اتیل استات فعالیت ضد میکروبی بالاتری را علیه گونه‌های *شیگلا*، *اشرشیا کلی* و *کاندیدا آلبیکنس* نشان داد. به همین ترتیب، عصاره بوتانول فعالیت بیشتری را در برابر گونه‌های *شیگلا*، گونه‌های *اروینیا*، *اشرشیا کلی*، *پروتئوس ولگاریس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *کاندیدا آلبیکنس* بروز داد. همچنین درصد مهار رادیکال ABTS به‌ترتیب ۸۳/۱، ۸۲/۰، ۸۷/۲ و ۸۷/۰ درصد برای عصاره‌های هگزان، متیلن کلراید، اتیل استات و بوتانول در مقایسه با اسید اسکوربیک (۸۹/۲ درصد) بود (Saad *et al*., 2017).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی عصاره‌های اتانول، متانول، اکتانول و n-هپتان قسمت‌های غلاف دانه و میوه کهورک توسط پودینه و همکاران (Poudineh *et al*., 2015) مورد بررسی قرار گرفت. در بین عصاره‌ها، عصاره اکتانول دانه بهترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۰/۹۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) را نشان داد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در حلال‌های مختلف روندهای متفاوتی را نشان داد که ممکن است در نتیجه تفاوت در قطبیت و توانایی پیوند هیدروژنی هر حلال باشد. همچنین بیشترین میزان ترکیبات فنولی با استخراج اکتانول در میوه (mg GAE/g ۶۵/۴۵) و دانه (mg GAE/g ۷۶/۶۸) بدست آمد. خواص ضد باکتریایی عصاره‌ها تنها توسط عصاره‌های متانولی و اتانولی غلاف‌های میوه ثبت شد که از رشد *استافیلوکوکوس* و *اشرشیا کلی* جلوگیری می‌کرد (Poudineh *et al*., 2015).

همان‌طور که نتایج این مطالعه نشان می‌دهد، عصاره اتانولی ریشه کهورک ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی از خود نشان می‌دهد، بنابراین می‌تواند به‌عنوان منبعی از ترکیبات طبیعی زیست‌فعال در نظر گرفته شود. ترکیبات فنولی مانند فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک موجود در عصاره ممکن است به‌عنوان اجزای اصلی مسئول این فعالیت‌ها در نظر گرفته شوند.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، عصاره اتانولی به دست آمده از ریشه گیاه کهورک به‌عنوان منبع غنی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی شناسایی شد. عصاره اتانولی ریشه کهورک ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی مؤثری را نشان داد. نتایج به وضوح اثر امیدوارکننده عصاره ریشه کهورک را در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نشان داد. از آنجایی که مقاومت میکروبی به‌طور مداوم در حال افزایش است، عصاره اتانولی ریشه کهورک می‌تواند به‌عنوان گزینه مکمل مناسبی برای غلبه بر این مشکل در نظر گرفته شود. علاوه بر این، نقش تک تک اجزای این عصاره یا ترکیب آنها با عوامل ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدان معمول می‌تواند موضوع تحقیقات آینده باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

References

1. Alghooneh, A., Behbahani, B.A., Noorbakhsh, H., & Yazdi, F.T. (2015). Application of intelligent modeling to predict the population dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* in Frankfurter sausage containing *Satureja bachtiarica* extracts. *Microbial Pathogenesis*, *85*, 58-65. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.06.003
2. Alizade Behbahani, B., Noshad, M., & Falah, F. (2019). Investigation of antimicrobial activity of Fennel essential oil on some pathogenic microorganisms causing infection and food poisoning and its interaction with kanamycin antibiotic. *Food Science and Technology*, *16*(91), 233-241.
3. Alizade Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Heidari Sureshjani, M., Mortazavi, A., & Tabatabaei Yazdi, F. (2014). Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic *Satureja bachtiarica* extracts "in vitro". *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*, *19*(64), 13-19.
4. Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Vasiee, A., & Tabatabaee Yazdi, F. (2021). Control of microbial growth and lipid oxidation in beef using a *Lepidium perfoliatum* seed mucilage edible coating incorporated with chicory essential oil. *Food Science & Nutrition*, *9*(5), 2458-2467. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/fsn3.2186

5. Alizadeh Behbahani, B., & Fooladi, A.A.I. (2018). Evaluation of phytochemical analysis and antimicrobial activities *Allium* essential oil against the growth of some microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis*, *114*, 299-303. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.11.055
6. Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., & Falah, F. (2019). Study of chemical structure, antimicrobial, cytotoxic and mechanism of action of *Syzygium aromaticum* essential oil on foodborne pathogens. *Potravinarstvo*, *13*(1), 875-883.
7. Alizadeh Behbahani, B., & Shahidi, F. (2019). Melissa officinalis essential oil: Chemical compositions, antioxidant potential, total phenolic content and antimicrobial activity. *Nutrition and Food Sciences Research*, *6*(1), 17-25. http://dx.doi.org/10.29252/nfsr.6.1.17
8. Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Yazdi, F.T., & Mohebbi, M. (2013). Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus" in vitro". *International Journal of Agronomy and Plant Production*, *4*(7), 1652-1658.
9. Alizadeh Behbahani, B., Yazdi, F.T., Mortazavi, A., Zendeboodi, F., & Gholian, M.M. (2013). Effect of aqueous and ethanolic extract of *Eucalyptus camaldulensis* L. on food infection and intoxication microorganisms “in vitro”. *Archives of Advances in Biosciences*, *4*(3), 89-99.
10. Almaraz-Abarca, N., da Graça Campos, M., Avila-Reyes, J.A., Naranjo-Jimenez, N., Corral, J.H., & Gonzalez-Valdez, L.S. (2007). Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). *Journal of Food Composition and Analysis*, *20*(2), 119-124. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.08.001
11. Aqeel, A., Khursheed, A., Viqaruddin, A., & Sabiha, Q. (1989). Antimicrobial activity of julifloricine isolated from *Prosopis juliflora*. *Arzneimittel-forschung*, *39*(6), 652-655.
12. Aziznia, H., Keramat, J., & Soleimanian Zad, S. (2019). Antioxidant properties and antimicrobial activity of *Prosopis farcta* root extract on foodborne bacteria. *Food Hygiene*, *9*(2 (34)), 47-59. https://doi.org/10.30495/jfh.2019.665680
13. Barzegar, H., Behbahani, B.A., & Mehrnia, M.A. (2020). Quality retention and shelf life extension of fresh beef using *Lepidium sativum* seed mucilage-based edible coating containing *Heracleum lasiopetalum* essential oil: an experimental and modeling study. *Food Science and Biotechnology*, *29*(5), 717-728.
14. Behbahani, B.A., Shahidi, F., Yazdi, F.T., Mortazavi, S.A., & Mohebbi, M. (2017). Use of *Plantago major* seed mucilage as a novel edible coating incorporated with *Anethum graveolens* essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. *International Journal of Biological Macromolecules*, *94*, 515-526. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.055
15. Duffy, C.F., & Power, R.F. (2001). Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *17*(6), 527-529.
16. Ebrahimi Hemmati Kaykha, M., Jooyandeh, H., Alizadeh behbahani, B., & Noshad, M. (2020). Antimicrobial potential of *Cordia myxa* fruit on pathogenic bacteria: A study “in vitro” laboratory conditions. *Food Science and Technology*, *17*(101), 71-80. https://doi.org/10.52547/fsct.17.101.71
17. Falah, F., Shirani, K., Vasiee, A., Yazdi, F.T., & Behbahani, B.A. (2021). In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of *Echinops setifer* extract. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *35*, 102102. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102102
18. Farboodniay Jahromi, M.A., Etemadfard, H., & Zebarjad, Z. (2018). Antimicrobial and antioxidant characteristics of volatile components and ethanolic fruit extract of *Prosopis farcta*. *Trends in Pharmaceutical Sciences*, *4*(3), 177-186.
19. Garavand, F., Eghbal, N., Nooshkam, M., Miraballes, I., & Jafari, S.M. (2021). Salt, spices, and seasonings formulated with nano/microencapsulated ingredients. In *Application of Nano/Microencapsulated Ingredients in Food Products* (pp. 435-467). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815726-8.00010-6
20. Khatami, M., Azizi, Z., Sh, P., & Najarion, O. (2016). Antibacterial effect of silver nanoparticles synthesized by green method against the standard strains *Escherichia coli* k12 and *Escherichia coli* 25922. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*, *17*(4), 119-124.
21. Morovati Sharifabad, M., & Salehi, E. (2017). The effect of feeding with *Prosopis farcta* aqueous extract in reduction of hyperlipidemia risk and liver enzymes level in hypercholesterolemic rats. *Veterinary Researches & Biological Products*, *30*(2), 194-199. https://doi.org/10.22034/vj.2017.109243
22. Nooshkam, M., Varidi, M., & Bashash, M. (2019). The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. *Food Chemistry*, *275*, 644-660. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.083
23. Ortega-Ramirez, L.A., Rodriguez-Garcia, I., Leyva, J. M., Cruz-Valenzuela, M.R., Silva-Espinoza, B.A., Gonzalez-Aguilar, G.A., Siddiqui, M.W., & Ayala-Zavala, J.F. (2014). Potential of medicinal plants as antimicrobial and antioxidant agents in food industry: a hypothesis. *Journal of Food Science*, *79*(2), R129-R137. https://doi.org/10.1111/1750-3841.12341

24. Poudineh, Z., Amiri ,R., Najafi, S., & Mir, N. (2015). Total phenolic content, antioxidant, and antibacterial activities of seed and pod of *Prosopis farcta* from Sistan region, Iran. *Azarian Journal of Agriculture*, *2*(2), 51-56.
25. Rahmati-Joneidabad, M., & Alizadeh Behbahani, B (2021). *Boswellia sacra* essential oil: Antioxidant activity and antifungal effect on some spoilage fungi causing strawberry rot. *Food Science and Technology*, *18*(114), 25-34. http://doi.org/10.52547/fsct.18.114.25
26. Saad, A.M., Ghareeb, M.A., Abdel-Aziz, M.S., Madkour, H.M.F., Khalaf, O.M., El-Ziaty, A.K., & Abdel-Mogib, M. (2017). Chemical constituents and biological activities of different solvent extracts of *Prosopis farcta* growing in Egypt. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, *9*(5), 67-76. https://doi.org/10.5897/JPP2017.0452
27. Shahidi, F., Tabatabaei, Y.F., Roshanak, S., Alizadeh, B.B., Vasiee, A., & Norouzi, N. (2019). Antimicrobial activity of *Taraxacum pseudocalocephalum* leaves extract on pathogenic microorganisms and comparison with common therapeutic antibiotics in vitro. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*, *23*(83), 37-46.
28. Tabatabaei Yazdi, F., Alizade Behbahani, B., & Heidari Sureshjani, M. (2014). The comparison of antimicrobial effects of Chevil (*Ferulago angulata*) extract with a variety of common therapeutic antibiotics in vitro. *Journal of Arak University of Medical Sciences*, *17*(3), 35-46.
29. Tanavar, H., Barzegar, H., Alizade Behbahani, B., & Mehrnia, M. A. (2020). Evaluation of the antimicrobial activity of *Mentha pulegium* essential oil on some foodborne pathogens and its interaction with gentamicin and chloramphenicol in vitro. *Food Science and Technology*, *16*(97), 77-87.
30. Yazdi, F.T., & Behbahani, B.A. (2013). Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic *Teucrium polium* L. extracts on gram positive and gram negative bacteria “in vitro”. *Archives of Advances in Biosciences*, *4*(4), 56-62.
31. Yeganegi, M., Yazdi, F.T., Mortazavi, S.A., Asili, J., Behbahani, B.A., & Beigbabaei, A. (2018). *Equisetum telmateia* extracts: Chemical compositions, antioxidant activity and antimicrobial effect on the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microbial Pathogenesis*, *116*, 62-67. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.01.014